

PCT/FR00/02088

09/787543

REC'D	26 SEP 2000
WIPO	PCT

BREVET D'INVENTION

CERTIFICAT D'UTILITÉ - CERTIFICAT D'ADDITION

FR00/02088

COPIE OFFICIELLE

Le Directeur général de l'Institut national de la propriété industrielle certifie que le document ci-annexé est la copie certifiée conforme d'une demande de titre de propriété industrielle déposée à l'Institut.

27 JUIL. 2000

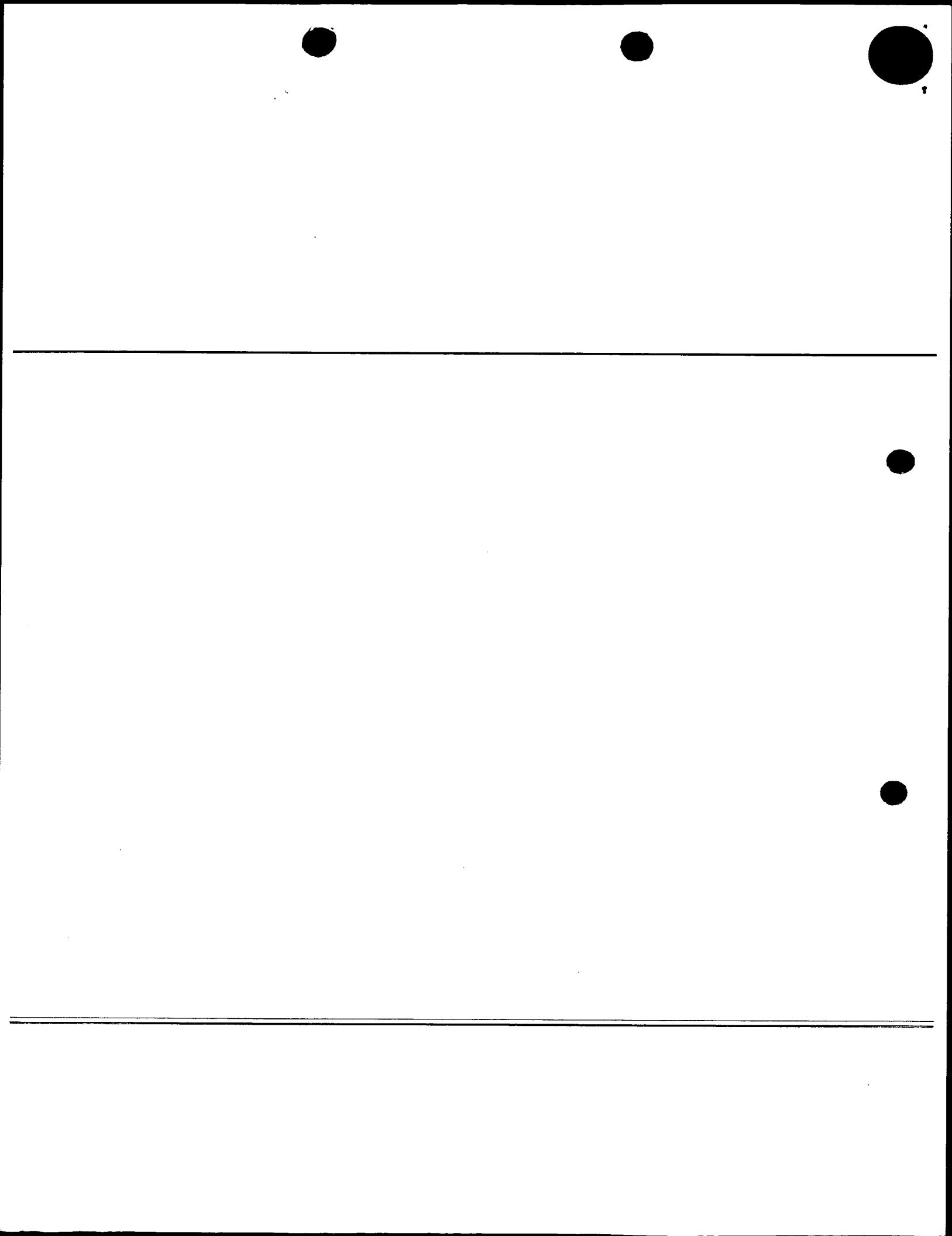
Fait à Paris, le

PRIORITY DOCUMENT
 SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
 COMPLIANCE WITH
 RULE 17.1(a) OR (b)

Pour le Directeur général de l'Institut
 national de la propriété industrielle
 Le Chef du Département des brevets

Martine PLANCHE

INSTITUT NATIONAL DE LA PROPRIETE INDUSTRIELLE	SIEGE 26 bis, rue de Saint Petersbourg 75800 PARIS Cedex 08 Téléphone : 01 53 04 53 04 Télécopie : 01 42 93 59 30
---	---





INSTITUT
NATIONAL DE
LA PROPRIÉTÉ
INDUSTRIELLE

26 bis, rue de Saint Pétersbourg
75800 Paris Cedex 08
Téléphone : 01 53 04 53 04 Télécopie : 01 42 93 59 30

BREVET D'INVENTION, CERTIFICAT D'UTILITÉ

Code de la propriété intellectuelle-Livre VI

cerfa
N° 55-1328

REQUÊTE EN DÉLIVRANCE

Confirmation d'un dépôt par télécopie

Cet imprimé est à remplir à l'encre noire en lettres capitales

Réservé à l'INPI

DATE DE REMISE DES PIÈCES

21 JUIL 1999

N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL

9909467

DÉPARTEMENT DE DÉPÔT

75 INPI PARIS

DATE DE DÉPÔT

21 JUIL 1999

2 DEMANDE Nature du titre de propriété industrielle

brevet d'invention demande divisionnaire



certificat d'utilité transformation d'une demande de brevet européen

brevet d'invention

n°du pouvoir permanent références du correspondant

téléphone

BFT 99/0239

53-20-14-20

date

Établissement du rapport de recherche

différé immédiat

Le demandeur, personne physique, requiert le paiement échelonné de la redevance

oui non

Titre de l'invention (200 caractères maximum)

Mousse adhésive à usage chirurgical et/ou thérapeutique, et procédé et kit pour son obtention.

3 DEMANDEUR (S) n° SIREN

code APE-NAF

Nom et prénoms (souligner le nom patronymique) ou dénomination

Forme juridique

IMEDEX BIOMATERIAUX

Nationalité (s)

Française

Pays

Adresse (s) complète (s)

Zone Industrielle Les Troques 69630 CHAPONOST

FR

En cas d'insuffisance de place, poursuivre sur papier libre

4 INVENTEUR (S) Les inventeurs sont les demandeurs

oui

non Si la réponse est non, fournir une désignation séparée

5 RÉDUCTION DU TAUX DES REDEVANCES

requise pour la 1ère fois

requise antérieurement au dépôt ; joindre copie de la décision d'admission

6 DECLARATION DE PRIORITÉ OU REQUÊTE DU BÉNÉFICE DE LA DATE DE DÉPÔT D'UNE DEMANDE ANTÉRIEURE

pays d'origine

numéro

date de dépôt

nature de la demande

7 DIVISIONS antérieures à la présente demande n°

date

n°

date

8 SIGNATURE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE

(nom et qualité du signataire)

CABINET LAVOIX

M. OUDENSKY n° 92-1216

SIGNATURE DU PRÉPOSÉ À LA RÉCEPTION

SIGNATURE APRÈS ENREGISTREMENT DE LA DEMANDE À L'INPI

DÉSIGNATION DE L'INVENTEUR

(si le demandeur n'est pas l'inventeur ou l'unique inventeur)

DEPARTEMENT DES BREVETS

26bis, rue de Saint-Pétersbourg
75800 Paris Cedex 08
Tél. : 01 53 04 53 04 - Télécopie : 01 42 93 59 30

N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL

99 09 467

TITRE DE L'INVENTION : **Mousse adhésive à usage chirurgical et/ou thérapeutique, et procédé et kit pour son obtention.**

LE(S) SOUSSIGNÉ(S)

IMEDEX BIOMATERIAUX
Zone Industrielle Les Troques 69630 CHAPONOST FRANCE

DÉSIGNE(NT) EN TANT QU'INVENTEUR(S) (indiquer nom, prénoms, adresse et souligner le nom patronymique) :

TAYOT Jean-Louis
1 rue des Greffières
69890 LA TOUR DE SALVAGNY FRANCE

BAYON Yves
81 rue Alexandre Boutin
69100 VILLEURBANNE FRANCE

GRAVAGNA Philippe
23 Grande Rue
69540 IRIGNY FRANCE

DUBOIS Michel Marie
34 chemin du Signal
69110 STE FOY LES LYON FRANCE

NOTA : A titre exceptionnel, le nom de l'inventeur peut être suivi de celui de la société à laquelle il appartient (société d'appartenance) lorsque celle-ci est différente de la société déposante ou titulaire.

Date et signature(s) du (des) demandeur(s) ou du mandataire

Paris, le 2 Septembre 1999

CABINET LAVOIX
M. MONCHENY n° 92.1179

A. Moncheny

DOCUMENT COMPORTANT DES MODIFICATIONS

Un changement apporté à la rédaction des revendications d'origine, sauf si celui-ci découle des dispositions de l'article R.612-36 du code de la Propriété Intellectuelle, est signalé par la mention «R.M.» (revendications modifiées).

La présente invention se situe dans le domaine des adhésifs biologiques, biodégradables et non toxiques destinés à un usage chirurgical et/ou thérapeutique.

D'une manière plus précise, la présente invention est relative à une 5 mousse adhésive fluide biocompatible, biorésorbable et non toxique, à usage chirurgical et/ou thérapeutique.

Elle est également relative à une telle mousse renfermant des substances bioactives libérables en un site déterminé.

10 L'invention concerne par ailleurs un procédé pour l'obtention d'une telle mousse adhésive, ainsi qu'un kit pour sa préparation.

Elle concerne encore l'utilisation de la mousse adhésive en chirurgie et/ou à des fins thérapeutiques, notamment pour la protection de plaies et la liaison de tissus biologiques entre eux ou à un biomatériau implanté.

15

On connaît des colles biologiques pouvant adhérer aux tissus ou les fixer entre eux, en quelques minutes, sans utiliser des agrafes ou des sutures. Ces colles s'éliminent, en général après la cicatrisation de la plaie, par biodégradation, résorption ou par simple détachement sous 20 forme de croûtes.

Différentes technologies ont été développées pour la formulation d'adhésifs tissulaires. Certains d'entre eux sont d'origine synthétique comme les colles à base de cyanoacrylates (2-butyl-cyanoacrylate, 2-octylcyanoacrylate) ou de polymères synthétiques et d'autres contiennent 25 des matériaux biologiques comme le collagène ou la fibrine.

D'une manière générale, les adhésifs synthétiques sont utilisés pour l'étanchement de vaisseaux ou des poumons ainsi que pour « coller » les bords d'incisions cutanées. Les dérivés biologiques adhésifs tels que le collagène et la fibrine possèdent en outre des propriétés 30 hémostatiques et agissent également en contrôlant les saignements.

Les colles cyanoacrylates se dégradent en formant des produits toxiques, même si les colles récemment développées sont moins nocives.

Elles conduisent à des produits cassant après polymérisation sur le site d'application. Elles restent en place 7 à 10 jours et sont éliminées par simple détachement, après cicatrisation. Leur temps de polymérisation est peu modulable, inférieur à 1 minute, et ne permet pas une utilisation souple de ces colles. Elles peuvent aussi facilement couler et, par suite, coller des tissus adjacents au site souhaité.

FOCAL (US 5,844,016) a décrit des adhésifs synthétiques reposant sur la polymérisation photochimique d'hydrogel de polyéthylène glycol (PEG). Leur procédé d'utilisation n'est pas pratique. En effet, ils impliquent une application en plusieurs étapes, sur le site opératoire, de la solution contenant l'initiateur photochimique (Eosine Y), de la solution de monomère (dérivé de PEG et d'acrylate) pouvant renfermer une substance biologiquement active, puis l'irradiation avec de la lumière jusqu'à obtenir un gel solide transparent et adhérent, après 40 à 60 secondes. Ce type d'adhésif nécessite ainsi l'application de plusieurs solutions qui, en raison de leur fluidité, peuvent facilement se répandre sur des sites adjacents au site cible.

Ces adhésifs ont aussi été décrits pour la délivrance ciblée de substances biologiquement actives (Vascular endothelial growth factor [VEGF], endothelial cell growth factor [ECGF], basic fibroblast growth factor [bFGF], bone morphogenic protein [BMP] ...) contenues dans leur réseau microparticulaire (FOCAL US 5 879 713).

BARD (WO 97/42986) a décrit un adhésif similaire à celui de FOCAL précité, pour lequel la polymérisation est induite par les u.v.

COHESION TECHNOLOGIES (US 5,874,500 ; US 5,744,545 ; US 5,550,187) a également décrit des colles liquides à base de PEG activé (ex. PEG comportant des groupes succinimidyles et maléimidyles) qui polymérisent après une simple application sur le site cible d'application, en un temps variable. Ces colles sont potentiellement toxiques et présentent l'inconvénient d'être fluides empêchant une application précise sur le site d'intervention.

CRYOLIFE a développé un autre type d'adhésif, à base d'un mélange d'albumine bovine et de glutaraldéhyde. Outre les effets toxiques connus de cet agent réticulant, cet adhésif présente également les problèmes de fluidité précités.

5 Les colles de fibrine, mélange de fibrinogène concentré et de thrombine, créent une matrice de fibrine qui est lentement dégradée par le système fibrinolytique endogène. Avant polymérisation, elles sont très fluides et, peuvent facilement couler, même si leur temps de réaction est ajustable en jouant sur la quantité totale de thrombine. Elles peuvent 10 libérer des substances biologiques actives (ex. Zarge et coll., J. Surg. Res., 1997, 67, 4-8 ; Greisler et coll., Surgery, 1992, 112, 244-255 ; Gray et coll., Surg. Forum, 1993, 44, 394-396 ; Clinica, 1999, 848, 18).

Des dispositifs associant les colles de fibrine à des liposomes ont aussi été décrits (US 5,651,982).

15 Les colles de fibrines peuvent être vaporisées sur le site d'application, à l'aide d'un spray, et former un film de coagulum écumeux (US 5,607,694 ; WO 97/33646).

Des dispositifs complexes associant une protéine polymère de synthèse à un agent de réticulation ont été proposés comme adhésifs 20 biologiques (US 5,817,303).

Enfin, plusieurs adhésifs à base de collagène ou de gélatine ont été décrits dans la littérature. Très tôt, la gélatine a été associée au résorcinol et au formaldéhyde ou au glutaraldéhyde pour conduire à un adhésif présentant également des propriétés hémostatiques (Tatooles et coll., Surgery, 1966, 60, 857-861 ; Braunwald et coll., Surgery, 1966, 59, 1024-25 1030 ; Guilmet et coll., J. Thorac. Cardiovasc. Surg., 1979, 77, 516-521). Avec ce type d'adhésif, il y a néanmoins un risque de relargage de formaldéhyde ou de glutaraldéhyde à l'origine de réactions toxiques, entraînant des nécroses tissulaires, ou des réactions moins sévères, 30 conduisant à une mauvaise cicatrisation ou à son ralentissement.

Dans certaines formulations, le collagène est étroitement associé à de la thrombine (CoStasis de Cohesion technol. et Flo-Seal de Fusion).

Pour des applications en chirurgie, il peut être également modifié chimiquement avec des agents d'acylation ou de sulfonation pour que le collagène, ainsi transformé, puisse polymériser sur le site d'application, en présence ou non d'un initiateur (US 5,874,537 ; WO 97/42986).

5 Un adhésif obtenu à partir de collagène chauffé et, comme agent de réticulation, un polyaldehyde macromoléculaire biodégradable a également été décrit (FR 2,754,267 ; FR 2,754,268).

Les colles à usage chirurgical et/ou thérapeutique, décrites dans la littérature, se présentent essentiellement sous forme liquide.

10 Un matériau lyophilisé non injectable, comprenant entre autres les éléments de la colle de fibrine (thrombine et fibrinogène) et du collagène a été décrit, dans la littérature, comme un hémostatique efficace et un adhésif (Nishida et coll., Geka Shinryo [Surgical Diagnosis Treatment], 1994, 36, 1449-1459 ; Ochiai et coll., Sanpujinka no Jissai [Obstetric and 15 Gynecologic Practice], 1995, 44, 253-262 ; Schelling et coll., Ann. Surg., 1987, 205, 432-435 ; Shimamura et coll., The Clinical Report, 1994, 28, 2994-2507).

20 Certains adhésifs ont également été proposés sous forme de spray pour permettre une application plus homogène et plus discrète sur une surface importante. Cependant, l'utilisation de spray présente des inconvénients dont :

25 i) l'apport de quantités non négligeables de dioxyde de carbone ou d'autres gaz, entraînant des risques de surpression dangereuse et pouvant se révéler toxique pour des applications en chirurgie non invasive,

ii) le déplacement important du mélange adhésif sur le site de dépôt par le gaz propulseur de l'applicateur,

30 iii) le développement d'un applicateur spécial pour spray, augmentant sensiblement le prix de revient du dispositif adhésif et pouvant nécessiter un environnement plus complexe, notamment à cause de la connexion du dispositif à une source de gaz propulseur.

L'invention a pour objectif de fournir un adhésif ne présentant pas les inconvénients majeurs évoqués précédemment, en particulier, risques de toxicité, difficultés d'application notamment dues à la fluidité, à une application en plusieurs étapes et au temps de réactivité des composants,
5 emploi de gaz propulseurs (spray), etc...

L'invention a ainsi pour objectif de fournir un adhésif qui soit fluide et éventuellement injectable, biocompatible, biorésorbable et non toxique, adapté à un usage chirurgical et / ou thérapeutique, stable dans le temps et pouvant être conservé dans des conditions relativement simples.

10 L'invention a aussi pour objectif de fournir un tel adhésif pour la liaison de tissus biologiques, y compris des tissus vivants, entre eux ou avec un biomatériau implanté ou encore pour le comblement de cavités tissulaires ou la protection de plaies tissulaires.

15 L'invention a également pour objectif de fournir un tel adhésif sous forme prête à l'emploi, d'utilisation simple et pratique, notamment injectable à l'aide de cathéters ou canules.

Un autre objectif de l'invention est de fournir un adhésif dont la structure facilite la colonisation tissulaire.

20 Un autre objectif est de fournir un adhésif dont la biodégradabilité est contrôlable dans le temps, après application.

Un autre objectif de l'invention est de fournir un adhésif pouvant contenir des substances biologiquement actives.

25 La présente invention a par ailleurs pour objectif de procurer un procédé pour la préparation d'un tel adhésif, qui soit facile à mettre en oeuvre et sans danger pour l'organisme receveur.

L'invention a en outre pour objectif de fournir des kits permettant une préparation simple et rapide d'un tel adhésif.

Ces objectifs ainsi que d'autres qui ressortiront de la description
donnée ci-après, sont atteints à l'aide d'une mousse adhésive fluide
30 biocompatible, biorésorbable et non toxique, à usage chirurgical et/ou thérapeutique, notamment pour la liaison de tissus biologiques entre eux ou à un biomatériau implanté et la cicatrisation de plaies tissulaires,

caractérisée en ce qu'elle comprend une matrice adhésive fluide biocompatible, biorésorbable et non toxique renfermant un gaz ou un mélange de gaz biocompatible et non toxique.

L'invention a également pour objet un procédé pour la préparation
5 d'une mousse adhésive telle que précitée, caractérisé en ce qu'il
~~comprend le fait de mélanger extemporanément, de manière homogène,~~
un gaz ou un mélange de gaz biocompatibles et non toxiques avec un
matériau fluide de matrice adhésive biocompatible, biorésorbable et non
toxique, ou avec un des constituants de base d'un tel matériau solubilisé
10 en milieu aqueux.

L'invention a aussi pour objet un kit pour la préparation d'une telle
mousse adhésive, caractérisé en ce qu'il comprend des composants pour
former une matrice fluide adhésive biocompatible, biorésorbable et non
toxique, un gaz ou un mélange de gaz biocompatibles et non toxiques, et
15 des moyens pour mélanger extemporanément ledit gaz ou mélange de
gaz avec lesdits constituants pour former la matrice adhésive, le ou les
constituants de base étant solubilisés en milieu aqueux.

Les inventeurs ont mis en évidence, de manière surprenante, que
l'on pouvait préparer des mousses fluides et adhésives, en incorporant
20 extemporanément un gaz ou un mélange de gaz dans des 'colles'
biologiques, pour obtenir des mousses prêtes à l'emploi, applicables
notamment par injection, en utilisant différents dispositifs, tels que des
canules ou des cathéters.

Les inventeurs ont montré, de manière tout à fait inattendue, que de
25 telles mousses présentent des propriétés adhésives, notamment sur des
tissus biologiques, y compris des tissus vivants, comparables aux 'colles'
biologiques sous forme liquide, tout en étant plus élastiques et sont
~~parfaitement tolérées par l'organisme receveur. Elles peuvent conserver~~
leurs propriétés adhésives jusqu'à leur complète dégradation.

30 Ils ont également découvert que de telles mousses présentent des
caractéristiques imprévues de colonisation rapide et efficace par des
cellules de l'organisme receveur.

Ils ont également découvert, de manière tout autant imprévue, que de telles mousses adhésives pouvaient être appliquées avec une grande précision sur des tissus biologiques, pour leur liaison entre eux ou à un biomatériau implanté présentant des fonctions réactives vis-à-vis de la 5 matrice adhésive, sans connaître les problèmes de coulure, ~~habituellement rencontrés avec les colles biologiques liquides ou les~~ risques de dispersion des colles par les gaz propulseurs des spray. Les dépôts de ces mousses adhésives sur les tissus sont en outre plus faciles à visualiser grâce à leur texture microporeuse particulière et à leur 10 opacité, caractères se différenciant très sensiblement des colles liquides habituelles et des tissus humains ou animaux.

Ils ont également montré que certaines formulations de ces mousses perdent leur caractère 'collant' sur leur surface externe, après polymérisation des agents adhésifs, permettant une application sélective 15 et précise de ces mousses sur les tissus cibles sans coller des tissus non désirés.

Ils ont également découvert que l'on peut facilement incorporer à ces mousses adhésives des substances biologiquement actives, éventuellement associées à un véhicule les protégeant au moins 20 partiellement de modifications chimiques, potentiellement causées par les agents de polymérisation.

La présente invention va être décrite plus en détail ci-après.

Selon l'invention, par « matrice adhésive », on entend un réseau formé d'un ou plusieurs composants présentant des propriétés adhésives 25 et qui sont non toxiques, biocompatibles et biodégradables, ledit réseau renfermant un gaz ou un mélange de gaz biocompatibles et non toxiques.

Les propriétés adhésives de la matrice sont généralement acquises ~~par un processus de polymérisation et/ou de réticulation de son ou ses~~ constituants de base, de préférence, initié par un ou plusieurs agent(s) de 30 polymérisation/réticulation fourni(s) avant la formation de la mousse.

Par « non toxique », on entend tout produit dont la toxicité est suffisamment faible pour permettre une utilisation en chirurgie et/ou en

thérapeutique du corps humain ou animal, quel que soit le site d'application, en satisfaisant aux critères et normes imposés par la législation.

Par « biodégradable », on entend tout composant susceptible de disparaître par dégradation progressive (métabolisation).

La matrice adhésive peut correspondre, du point de vue de sa composition chimique, aux adhésifs et colles biologiques connus.

Elle peut ainsi consister ou comprendre un composé protéique (constituant de base), au moins partiellement polymérisé/réticulé qui est non toxique, biocompatible et biodégradable et qui possède des propriétés adhésives.

Le terme « composé protéique » désigne une protéine ou un mélange de protéines, éventuellement chimiquement modifiées, notamment par méthylation ou succinylation.

L'invention s'étend ainsi aux matrices adhésives obtenues à partir d'une composition comprenant, d'une part, un composé protéique (constituant de base) polymérisable/réticulable, potentiellement adhésif et, d'autre part, un agent de polymérisation/réticulation, par leur mélange extemporané avant utilisation.

Conformément à l'invention, par « composé protéique polymérisable/réticulable potentiellement adhésif », on entend tout composé protéique tel que défini précédemment capable de développer des propriétés adhésives par polymérisation et/ou réticulation sous l'effet d'un agent de polymérisation/réticulation.

Selon l'invention, l'agent de polymérisation/réticulation peut comprendre un composé ou un mélange de composés compatible avec le composé protéique polymérisable/réticulable pour provoquer la polymérisation/réticulation de celui-ci par un mélange extemporané, généralement en quelques minutes.

Les protéines mises en œuvre aux fins de l'invention sont choisies de préférence parmi le collagène, la gélatine, l'albumine, l'élastine et le

fibrinogène, et plus préférentiellement parmi le collagène et l'albumine. Le collagène est tout particulièrement préféré.

Le collagène utilisé aux fins de l'invention peut être indifféremment d'origine humaine ou animale, ou obtenu par des moyens de 5 recombinaison génétique. Il peut s'agir de collagène de type I, III, IV ou V, ou encore de leur mélange en toute proportion.

Il peut s'agir de collagène natif, c'est-à-dire qui a conservé sa structure hélicoïdale d'origine, éventuellement chimiquement modifié par méthylation, par succinylation ou toute autre méthode connue, notamment 10 pour le rendre plus soluble à pH physiologique, ou encore traité pour éliminer les télopeptides, notamment par digestion à la pepsine.

On peut utiliser également du collagène constitué majoritairement de chaînes α dont le poids moléculaire est voisin de 100 kDa, non hydrolysé. Dans ce cas, la structure hélicoïdale du collagène est 15 dénaturée, au moins partiellement, par exemple par un chauffage modéré, notamment à une température comprise entre 40 et 70°C, dans des conditions douces de manière à éviter la dégradation par coupure hydrolitique de la gélatine ainsi formée, généralement moins de 10% des chaînes collagéniques ayant un poids moléculaire inférieur à 100 kDa.

20 Une telle gélatine est appelée ci-après « collagène chauffé », pour la distinguer de la gélatine du commerce qui peut également être utilisée aux fins de l'invention mais de manière non préférée.

Le collagène natif ou le collagène chauffé décrits précédemment est mis en œuvre de préférence sous forme de solution aqueuse à une 25 concentration comprise entre 1 et 5%, de préférence entre 2,5 et 4% en poids pour le collagène natif, entre 4 et 20% de préférence entre 5 et 16% en poids pour le collagène chauffé.

~~Le pH des solutions de collagène natif ou de collagène chauffé est~~
de préférence neutre, plus préférentiellement compris entre 6 et 8.

30 Lorsque la matrice adhésive est obtenue à partir d'albumine, on l'utilise de préférence sous forme d'une solution aqueuse à une

concentration comprise entre 20 et 50% en poids, de préférence 40 à 50 %.

Dans le cas de fibrinogène, on utilise de préférence une solution aqueuse à une concentration comprise entre 10 et 20 %.

5 Conformément à la présente invention, l'agent de réticulation peut être choisi parmi des polymères réactifs naturels ou synthétiques, de préférence de poids moléculaire supérieur à 1000, tels que des polyaldéhydes macromoléculaires, des polymères hydrophiles, dont la diffusion ultérieure à partir de la colle est gênée par le poids moléculaire important, empêchant une toxicité directe immédiate.

10 Par « polymères réactifs », on entend des polymères capables de réagir avec les composés protéiques tels que définis précédemment, en particulier vis-à-vis de fonctions amine ou sulphydryle qu'ils peuvent contenir.

15 Les polyaldéhydes macromoléculaires qui peuvent être mis en œuvre selon l'invention comprennent des polyaldéhydes biodégradables d'origine naturelle, c'est-à-dire tout composé présentant plusieurs fonctions aldéhydiques dérivées d'un polymère naturel biodégradable.

20 Les polyaldéhydes peuvent être utilisés seuls ou en mélange, le terme « polyaldéhyde » utilisé ici désignant indifféremment un composé seul ou un mélange de plusieurs de ces composés.

25 Ces polyaldéhydes macromoléculaires peuvent être préparés par oxydation de polysaccharides ou de mucopolysaccharides notamment avec de l'acide périodique ou l'un de ses sels selon un procédé connu en soi.

Parmi les polysaccharides ou mucopolysaccharides convenant à la réalisation de l'invention, on peut citer l'amidon, le dextrane, l'agarose, la cellulose, la chitine, le chitosane, l'acide alginique, les glycosaminoglycanes, l'acide hyaluronique, et la chondroïtine sulfate ou 30 leurs dérivés. L'amidon et le dextrane sont préférés, l'amidon étant tout particulièrement préféré.

Le polyaldehyde peut être obtenu en ajoutant à la solution de polysaccharide ou mucopolysaccharide, une solution d'acide périodique ou l'un de ses sels jusqu'à l'obtention d'une concentration finale comprise entre 0,01 et 1 M, de préférence entre 0,25 et 0,5 M. L'étape d'oxydation 5 peut être opérée sur des solutions, des gels ou des suspensions de polysaccharide(s).

La préparation de polysaccharide oxydé peut ensuite être soumise à des dialyses, diafiltrations, filtrations, ultrafiltrations, dans le but d'éliminer les produits de la réaction d'oxydation et des réactifs ainsi que 10 des dérivés iodés formés pendant la réaction, ou en excès.

Avant utilisation, le polysaccharide ou mucopolysaccharide oxydé est conservé de préférence en solution acide, au pH qu'il acquiert spontanément, à une concentration comprise entre 0,5 et 5% en poids, de préférence entre 1 et 3%.

15 La solution est stable à l'abri de l'air et est conservée de préférence entre +1°C et +25°C.

Dans une variante, le polysaccharide ou mucopolysaccharide oxydé peut être sous forme lyophilisée acide, la redissolution du lyophilisat pouvant se faire en eau ou avec le tampon physiologique nécessaire.

20 Les polymères hydrophiles utiles aux fins de l'invention présentent de préférence un poids moléculaire de 1000 à 15000 Da, de préférence entre 2000 et 5000. Ils comprennent, par exemple, les dérivés de poly(éthylène) glycol (PEG), les poly(oxyéthylène), les poly(méthylène glycol), les poly(triméthylène glycol), les poly(vinylpyrrolidone), les dérivés 25 du PEG étant les plus préférés. Ils peuvent être linéaires ou ramifiés, mais ne sont pas fortement réticulés. Les polymères en bloc poly(oxyéthylène)-poly(oxypropylène) ayant éventuellement un noyau éthylène diamine (polymère à 4 fins de chaînes) peuvent également convenir.

Les polymères hydrophiles sont « activés » pour réagir 30 sélectivement avec les amines et les thiols des protéines. En fin de chaînes des polymères, on trouve une structure semblable à : -chaîne du polymère-liant-GP (Groupe partant) pour les polymères réagissant avec

les amines ou -chaînes du polymère-GRT (Groupe réactif vis-à-vis des thiols) pour les polymères réagissant avec les thiols.

Le liant peut être sélectionné parmi des groupes consistant en un carbonate $-C(O)-$, en un monoester $-R-CH_2-C(O)-$ ou un diester $-C(O)-O-(CH_2)_n-O-C(O)-$, le GP peut être un dérivé succinimidyle, maléimide, phthalimidyle, imidazolyle, nitrophényle, trésyle ..., le dérivé succinimidyle étant le plus préféré. Enfin, les GTR peuvent être choisis parmi les dérivés vinylsulfone, iodoacétamide, maléimide et orthopyridyle-disulfure.

10 Ces polymères hydrophiles sont synthétisés suivant des méthodes connues de l'Homme de l'art.

Ils peuvent être conservés sous forme déshydratée, conditionnés en seringues.

15 Pour l'obtention de la matrice adhésive, les composés protéiques précités en solution aqueuse, notamment le collagène, le collagène chauffé ou l'albumine, sont mélangés extemporanément à l'agent de polymérisation/réticulation, dans des conditions telles que la polymérisation/réticulation desdits composés protéiques puisse se faire en un temps de préférence inférieur à 5 minutes.

20 Ce temps de polymérisation/réticulation peut être contrôlé selon les constituants mis en œuvre pour l'obtention de la matrice adhésive, d'une manière connue en soi.

25 Selon un mode de réalisation préféré de l'invention, la matrice adhésive est obtenue à partir du mélange d'un composé protéique en solution, de préférence du collagène natif, du collagène chauffé ou de l'albumine, avec un polysaccharide ou mucopolysaccharide oxydé, de préférence l'amidon ou le dextrane oxydé.

30 ~~La matrice adhésive peut ainsi être préparée, selon un premier mode de réalisation de l'invention, à partir d'un mélange de polyaldehyde et de collagène chauffé, dans un rapport en poids de 1 :10 à 1 :160, de préférence de 1 :15 à 1 :50, avec une concentration finale en collagène chauffé de 4 à 16%, de préférence de 4 à 13% en poids. La température~~

de la solution de polysaccharide est de préférence comprise entre +1°C et +30°C et celle de la solution de collagène chauffé à une valeur permettant sa fluidification, soit entre +37°C et +50°C. La température du mélange adhésif est comprise de préférence entre +35°C et +41°C. Le temps de réaction du mélange peut être ajusté en fonction du pH du collagène chauffé, variant entre 6,5 et 7,5. Un temps rapide de polymérisation, inférieur à 1 minute, peut être obtenu à pH 7,5 et être progressivement diminué en acidifiant la solution de collagène chauffé jusqu'à pH 6,5.

Selon un autre mode de réalisation de l'invention, la matrice adhésive est préparée à partir d'un mélange de polyaldehyde oxydé et de collagène natif dans un rapport en poids de 1 :10 à 1 :50, de préférence de 1 :10 à 1 :30, avec une concentration finale en collagène de 1 à 5%, de préférence de 2 à 4%. La température de la solution de polysaccharide oxydé est de préférence comprise entre +1°C et +30°C et celle de la solution de collagène natif entre +18°C et +37°C. La température du mélange adhésif est comprise de préférence entre +18°C et +37°C. Le temps de réaction du mélange peut être ajusté en fonction du pH du collagène, entre 6,5 et 7,5 et de la température du mélange. Le temps rapide de polymérisation augmente en diminuant le pH et/ou la température du mélange.

Selon un autre mode de réalisation de l'invention, la matrice adhésive est préparée à partir d'un mélange de polymère hydrophile activé en poudre et de collagène chauffé en solution, dans un rapport en poids de 1 :50 à 1 :1, de préférence entre 1 :10 à 1 :1, avec une concentration finale de collagène chauffé de 4 à 20 %, de préférence entre 10 et 18 %. La température de la solution de collagène chauffé est comprise entre +37 et +50°C et le pH de la solution de collagène chauffé peut varier de 6,9 à 9,0, suivant le temps de réticulation souhaité, de moins d'une minute à plusieurs dizaines de minutes. La température du mélange adhésif résultant est comprise de préférence entre +35 et +41°C.

Selon encore un autre mode de réalisation, on peut utiliser un mélange de polyaldehyde oxydé et d'albumine de 1 :4.

Selon un autre mode de réalisation de l'invention où la matrice adhésive est à base de colle de fibrine, les colles actuellement disponibles sur le marché, notamment celles vendues sous les noms « Tissucol® » ou « Tisseel® » commercialisées par Baxter, « Beriplast® » commercialisée par Centéon, peuvent être utilisées aux fins de l'invention.

Il s'agit d'une solution concentrée de fibrinogène (70-140 mg/ml) contenant du facteur XIII et éventuellement de la fibronectine.

L'agent de polymérisation/réticulation consiste, dans ce cas, en une solution de thrombine (4-100 U.I) pouvant éventuellement être additionnée de collagène.

Conformément à l'invention, quel que soit le type de matrice adhésive choisi, la mousse adhésive est préparée lors de la formation de la matrice adhésive.

Lorsque celle-ci résulte du mélange de deux constituants de base (composé protéique - agent de polymérisation/réticulation), notamment dans les cas précités, ce mélange est réalisé extemporanément et avant son application sur les tissus. Lors de cette opération, un gaz est introduit par tout procédé connu de l'homme de l'art.

Le gaz peut être introduit notamment lors du mélange des constituants, ou directement dans le mélange préalablement formé (c'est-à-dire dans le matériau de matrice adhésive).

Selon un autre mode de mise en oeuvre de l'invention, on peut prévoir, de manière moins préférée, de réaliser le mélange des deux constituants de base *in situ*, c'est-à-dire l'application d'une mousse de composé protéique préalablement formée puis l'application subséquente, notamment par spray, de l'agent de polymérisation/réticulation nécessaire.

Le gaz utilisé aux fins de l'invention peut consister en de l'air ou en l'un ou plusieurs de ses composants, par exemple azote, oxygène, gaz carbonique.

Les gaz préférés sont l'air, le dioxyde de carbone et l'azote.

Il peut s'agir d'un gaz ou d'un mélange de gaz (désignés ci-après par le terme général « gaz »).

Conformément à l'invention, le gaz utilisé pour la formation de la mousse adhésive peut être associé, de manière préférée, à l'un des constituants de base pour la formation de la matrice adhésive, le cas échéant au composé protéique polymérisable/réticulable et/ou à l'agent de polymérisation/réticulation, et/ou apporté indépendamment de l'un de ces constituants.

Le terme « associé » désigne le cas où le gaz est simplement contenu dans le même récipient que le constituant de la matrice adhésive (phases liquide/gaz) comme le cas où le gaz est mélangé à l'agent de polymérisation/réticulation qui est par exemple sous forme pulvérulente ou lyophilisée.

Lorsque le gaz est associé à l'un des composants pour la matrice adhésive, la mousse est formée lors du mélange desdits composants pour l'obtention de la matrice adhésive.

Le gaz peut aussi être apporté indépendamment seul ou associé à un véhicule qui est non toxique, biocompatible et biodégradable et qui est mélangé avec la matrice adhésive et ses éléments constitutifs au moment de la préparation de la mousse adhésive.

Il peut s'agir d'un composé protéique tel que celui mis en œuvre pour la formation de la matrice adhésive. Toutefois, dans ce cas, la quantité de composé protéique servant de véhicule est telle qu'il ne peut permettre la formation de la matrice adhésive à lui seul.

Le véhicule peut renforcer ou compléter l'activité de la mousse ou présenter une activité biologique. Il peut en particulier constituer parallèlement un véhicule pour une (des) substance(s) biologiquement active(s) comme indiqué ci-après.

Dans ce cas, le mélange pour la formation de la matrice adhésive peut être préalablement réalisé (pour conduire au matériau de matrice adhésive) puis le gaz éventuellement associé à un véhicule tel que décrit précédemment, est alors introduit dans la matrice adhésive déjà en cours de formation.

L'agent de polymérisation/réticulation et/ou le véhicule contenant le gaz se présente de préférence sous forme déshydratée, en particulier lyophilisée.

En variante, le véhicule peut être, de manière moins préférée, sous forme liquide.

~~Selon un autre aspect de l'invention, d'autres composants~~
n'interférant pas avec la formation de la mousse peuvent être incorporés.

La mousse adhésive peut ainsi permettre la délivrance de substances biologiquement actives sur le site cible où elle est appliquée.

Une grande variété de substances biologiquement actives peut ainsi être mélangée au véhicule. Des exemples de telles substances incluent, mais de façon non limitative : drogues, vitamines, facteurs de croissance, hormones, dérivés stéroïdes, antibiotiques, vaccins, anti-viraux, antifongiques, anti-parasites, anti-tumoraux, anti-cancéreux, toxines, enzymes, inhibiteur d'enzymes, protéines, peptides, composés minéraux (ex. dérivés du zinc, du cuivre, du sélénium), neurotransmetteurs, lipoprotéines, glycoprotéines, immuno-modulateurs, immunoglobulines et fragments de ceux-ci, agents de contraste, dérivés d'acides gras, polysaccharides, acides nucléiques (ex. fragments d'ADN, d'ARN) et polynucléotides.

Parmi les facteurs de croissance, les facteurs suivants ou leurs gènes correspondants sont particulièrement préférés : facteurs de type EGF (Endothelial Growth Factor), FGF (Fibroblast Growth Factor), TGF- β Transforming Growth Factor - β incluant les BMP (Bone Morphogenetic Protein), IGF (Insulin Growth Factor), PDGF (Platelet Derived Growth Factor) VEGF (Vascular Endotheline Growth Factor) ou analogues et dérivés de ces facteurs.

~~Ces substances biologiquement actives peuvent être mélangées en solution avec le véhicule, puis éventuellement déshydratées par tout moyen connu de l'homme de l'art.~~

Il est possible également de reprendre un véhicule déshydraté dans un volume minimal de solution contenant la(les) substance(s) biologiquement active(s) ou d'ajouter une solution concentrée de cette(ces) substance(s) biologiquement active(s) à un véhicule déshydraté.

Enfin, de façon moins préférée, il est possible également de réaliser une solution aqueuse du véhicule mélangé à une(des) substance(s) biologiquement active(s) avant d'être mélangé au gaz.

Tout procédé connu de l'homme de l'art peut être employé pour 10 réaliser la mousse, consistant simplement à mélanger différents produits et un gaz de manière homogène. Le mélange est réalisé extemporanément avant utilisation pour obtenir une mousse adhésive prête à l'emploi.

A cet effet, on peut utiliser les kits qui font l'objet de la présente 15 invention.

Les constituants nécessaires à la formation de la mousse sont de préférence contenus, séparément, dans des seringues, la mousse étant obtenue par transfert en va-et-vient du contenu d'une seringue dans l'autre jusqu'à l'obtention d'un mélange homogène.

20 La mousse recueillie dans une seringue unique peut ensuite être appliquée au site désiré.

A cet effet, on peut utiliser un kit tel que celui décrit dans la demande WO 98/15299 pour la préparation d'une colle à base de collagène et de polyaldéhyde macromoléculaire.

25 On rappelle que ce kit peut se présenter sous la forme de deux seringues contenant respectivement le composant collagénique et le polyaldéhyde.

Les seringues sont fixées à un dispositif de maintien équipé de moyens de mélange conçus pour pouvoir mélanger extemporanément leur 30 contenu de manière homogène, après avoir réchauffé la seringue de collagène à la température appropriée comprise entre 37°C et 45°C selon la fluidité recherchée.

Le composé protéique et l'agent de polymérisation/réticulation sont conditionnés sous une des formes décrites ci-dessus.

La quantité de gaz nécessaire est présente également dans l'une des seringues ou partagée dans chacune d'elles de sorte que le gaz est 5 introduit au moment de la formation du matériau de matrice adhésive par mélange des constituants.

En variante, la quantité de gaz nécessaire éventuellement associée à un véhicule comme décrit ci-dessus, peut provenir d'une autre seringue, auquel cas il est introduit dans le matériau de matrice adhésive en cours 10 de formation par exemple par polymérisation/réticulation, après mélange des constituants de base, ce pré-mélange formant le matériau de matrice adhésive pouvant lui-même être obtenu à l'aide du kit selon la demande WO 98/15299.

15 Lorsqu'il est mélangé à un véhicule, éventuellement combiné à une(des) substance(s) biologiquement active(s), le gaz représente de préférence au minimum 50 % du volume total de la préparation, et de façon plus préférée, 90 % du volume total.

20 Le mélange se fait de préférence en incorporant un volume de gaz représentant 25 à 90% du volume total de la mousse, de préférence de 40 à 75%.

25 Ce mélange se fait par ailleurs à une température favorisant l'incorporation du gaz dans la colle biologique. Cette température est de préférence physiologique, de façon plus préférée comprise entre 18°C et 41°C.

Le cas échéant, ce mélange se fait au tout début de la réticulation, de préférence lorsque la viscosité initiale du mélange est la plus faible.

30 Les mousses obtenues conformément à l'invention présentent des propriétés adhésives satisfaisantes pour une utilisation en chirurgie et/ou en thérapeutique, comparables à celles des colles biologiques connues à base desquelles elles sont réalisées.

Elles doivent être utilisées aussitôt, dans les cinq premières minutes de la préparation.

Selon les éléments constitutifs de la matrice adhésive et son mode d'obtention, on peut de manière connue contrôler le temps de polymérisation/réticulation pour permettre la formation de la mousse et son application au site désiré.

5 La mousse adhésive objet de la présente invention est appliquée immédiatement après sa formation lorsqu'elle est encore en cours de polymérisation/réticulation.

Elle est applicable par des procédés connus de l'homme de l'art. Elle est de préférence injectable, à travers des seringues, des cathéters, 10 des canules ou tout autre matériel équivalent permettant un écoulement aisé de la mousse. Notamment, pour des dispositifs cylindriques, le diamètre intérieur peut être compris entre 0,1 à 2 mm. Le système d'injection peut comporter un applicateur dont la forme est particulièrement bien adaptée à l'utilisation souhaitée.

15 Selon une autre forme de réalisation de l'invention, la mousse peut être formée *in situ* par application subséquente des constituants nécessaires comme indiqué précédemment.

Elles peuvent perdre leur caractère collant après 20 polymérisation/réticulation, en permettant une application sélective et précise sur les tissus cibles sans coller les tissus non désirés, voisins du site d'intervention.

La vitesse de prise en masse de la matrice adhésive dans la structure en mousse n'est pas affectée par l'introduction du gaz.

La densité de la mousse finale est variable selon la quantité de gaz 25 introduite et l'application envisagée.

La mousse adhésive selon l'invention est non toxique et est parfaitement bien tolérée par l'organisme hôte, tout en étant plus élastique que les colles connues.

Grâce à sa faible densité, elle peut être appliquée avec une grande 30 précision sur les tissus, sans connaître les problèmes de coulure

habituellement rencontrés avec les colles liquides connues ou de dispersion par les gaz propulseurs des spray.

Les dépôts de mousse sur les tissus vivants sont notamment plus faciles à visualiser grâce à leur structure microporeuse particulière et leur 5 opacité.

En outre, la mousse adhésive selon l'invention favorise la colonisation tissulaire grâce à sa structure poreuse.

La mousse adhésive selon l'invention peut être mise en œuvre, de façon non limitative, pour arrêter le saignement de plaies vasculaires ou tissulaires, pour lier des tissus biologiques, y compris des tissus vivants, entre eux ou à un biomatériau implanté, pour la cicatrisation de plaies chirurgicales ou chroniques, la protection ou l'étanchéité de sutures, la prévention de la formation d'adhérences post-opératoires, la délivrance de substances biologiquement actives, le comblement de cavités tissulaires 10 (os, cartilage, lésions cutanées ...).

15 L'invention fournit ainsi un procédé de protection ou de liaison de tissus biologiques, y compris des tissus vivants, entre eux ou à un biomatériau implanté présentant des fonctions réactives vis-à-vis de l'un des constituants de la matrice adhésive, comprenant le fait de mélanger 20 les constituants (constituants de la matrice adhésive et gaz) nécessaires à la formation de la mousse, simultanément ou successivement comme indiqué ci-dessus.

On applique ensuite rapidement la mousse fluide résultante, c'est-25 à-dire en moins de 3 minutes, pendant la polymérisation/réticulation de la matrice adhésive, sur lesdits tissus et/ou ledit biomatériau à une température comprise entre 20° et 41°C, puis on laisse polymériser/réticuler l'ensemble.

Le mélange préalable à l'application peut être réalisé avec le kit décrit précédemment.

Le temps de polymérisation/réticulation peut être ajusté en fonction des constituants de la matrice adhésive et de leur conservation, d'une manière connue en soi en faisant varier le pH, les concentrations, la température.

5 Le temps de résorption *in vivo* peut également être ajusté notamment en modifiant chimiquement les constituants de base de la matrice adhésive, comme cela est connu dans la technique ou en contrôlant la concentration en agent de polymérisation/réticulation.

10 Selon la composition de la matrice adhésive, ce temps peut varier de quelques jours à plusieurs mois.

Selon les applications, le biomatériau implanté consiste en la mousse adhésive elle-même qui est alors utilisée seule.

15 Dans d'autres cas, il peut s'agir de fixer un biomatériau présentant par exemple des fonctions aminées, réactives vis-à-vis du polyaldehyde constitutif de la matrice adhésive.

Pour d'autres applications, notamment la prévention des adhérences post-opératoires, la mousse adhésive selon l'invention peut être utilisée seule ou être intimement liée à un film à base de collagène, pour former un matériau bicomposite.

20 Il peut s'agir d'un film collagénique tel que décrit dans WO 98/34656.

Le collagène mis en oeuvre pour former le film correspond à celui indiqué précédemment pour l'obtention de la mousse. Le collagène chauffé est préféré.

25 Le film collagénique peut comprendre en outre un additif hydrophile, de préférence chimiquement non réactif vis-à-vis du collagène, c'est-à-dire qui n'est pas susceptible de réagir avec le collagène présent, notamment qui ne forme pas de liaisons covalentes avec celui-ci lors de la réticulation.

30 L'additif hydrophile consiste de préférence en du polyéthylèneglycol.

La préparation du matériau bicomposite proprement dite est réalisée par l'assemblage de la couche formant film et de la mousse adhésive en cours de formation ou une fois formée, c'est-à-dire après mélange des constituants nécessaires.

5 L'assemblage comporte le coulage de la solution collagénique, destinée à réaliser le film, sur un support sensiblement plan adéquat, en répartissant celle-ci uniformément.

Le support est inerte en ce qu'il ne réagit pas avec les composants précités et n'intervient pas dans le processus de réticulation.

10 Il est de préférence hydrophobe, par exemple en PVC ou polystyrène.

Cependant, ce support peut également être constitué d'un matériau pelliculable qui restera faiblement adhérent et qui pourra ensuite être séparé au moment de l'utilisation chirurgicale.

15 Ce support peut encore être lui-même constitué d'un film, par exemple de collagène séché, sur lequel on coule la solution, ou encore d'une couche de gel de matériau collagénique à un état de gélification nettement plus avancé.

La densité de la couche mince appliquée est de préférence comprise entre 0,1 et 0,3 g/cm².

20 Le coulage de cette solution collagénique est réalisé à une température avantageusement comprise entre 4 et 30°C, de préférence entre 18 et 25°C.

25 On laisse cette solution se gélifier et on applique sur ladite solution en cours de gélification, la mousse préparée comme indiqué précédemment. En d'autres termes, on dépose la couche de mousse poreuse sur le gel, l'application se poursuivant par simple gravité ou, éventuellement par une légère compression insuffisante pour provoquer un tassement sensible de la mousse.

Le moment auquel on applique la mousse poreuse sur la solution en cours de gélification est tel que le gel est encore mou et laisse pénétrer celle-ci sur une distance qui est avantageusement de l'ordre de 0,05 à 2 mm, de préférence de l'ordre de 0,1 à 0,5 mm.

En général, lorsque la solution qui se gélifie est à une température comprise entre 4 et 30°C, la couche de mousse poreuse est appliquée entre 5 et 30 minutes après la répartition de la solution sur la surface qui la reçoit.

5 On laisse sécher ou on sèche l'ensemble pour obtenir le matériau bicomposite selon l'invention.

La polymérisation/réticulation de la matrice adhésive peut s'effectuer ou s'achever, le cas échéant pendant le séchage du matériau bicomposite.

10 Ce séchage est avantageusement obtenu à une température comprise entre 4 et 30°C, de préférence entre 18 et 25°C.

On peut réaliser le séchage du matériau dans un flux d'air stérile, si nécessaire.

Après séchage, le matériau bicomposite selon l'invention peut être 15 séparé de son support. En variante, il peut comprendre ou incorporer un film ou une couche de matériau collagénique sur lequel la solution collagénique a été coulée.

Le matériau bicomposite selon l'invention est stable à température ambiante et reste stable pendant un temps suffisant pour sa manipulation 20 à des températures pouvant aller jusqu'à 37-40°C.

L'épaisseur du film collagénique est de préférence inférieure à 100 µm, et plus préférentiellement comprise entre 30 et 75 µm.

L'épaisseur de la mousse est de préférence comprise entre 0,2 cm et 1,5 cm, plus préférentiellement encore entre 0,3 cm et 1,2 cm.

25 Un tel matériau bicouche présente un ensemble de qualités d'hémostase, d'anti-adhérences post-opératoires et de bio-dégradabilité particulièrement surprenantes.

Le matériau collagénique bicomposite selon l'invention est 30 particulièrement adapté à la prévention d'adhérences post-opératoires, en particulier sur des plaies hémorragiques, du fait de la prévention des adhérences par le film, de la bonne adhésion du matériau composite sur de telles plaies et de l'absence de sang à l'interface.

Outre leurs propriétés d'hémostase et de prévention d'adhérences post-opératoires, le matériau collagénique relevant de la présente invention facilite la cicatrisation, à cause de sa structure composite, associant une couche très poreuse de mousse à un film collagénique.

5 La partie poreuse du matériau est facilement colonisable par les cellules environnantes. Le film protège la cicatrisation en cours pendant quelques jours grâce à ses propriétés d'étanchéité aux bactéries et microorganismes.

10 Le pouvoir de prévention des adhérences par le film du matériau est également renforcé par l'accélération de la cicatrisation de la plaie par la couche de mousse du matériau.

Selon l'invention, le matériau collagénique bicomposite est ainsi utile pour l'hémostase et la prévention des adhérences post-opératoires sur des plaies saignantes tout en facilitant la cicatrisation.

15 En outre, l'additif hydrophile macromoléculaire est éliminé par diffusion à travers le matériau collagénique, en quelques jours, matériau dont le gonflement favorise la dégradation du film collagénique en moins d'un mois.

20 Le matériau bicomposite selon l'invention peut également être utilisé pour favoriser la cicatrisation. Sa structure poreuse très ouverte permet une colonisation cellulaire rapide. Le film permet, quant à lui, d'isoler la partie poreuse pour la rendre accessible à des cellules spécifiques.

25 A titre d'exemple, des fibroblastes peuvent être cultivés dans la partie poreuse du matériau, *in vitro*, et des cellules épithéliales peuvent être cultivées sur le film en réalisant deux compartiments provisoirement séparés.

L'invention va être décrite plus en détails à l'aide des exemples donnés ci-après à titre indicatif et non limitatif.

EXEMPLE 1 : Mousse adhésive constituée d'une matrice adhésive associant du collagène chauffé et de l'amidon oxydé (colle GAO)

5 *Préparation de l'amidon oxydé :*

Une solution d'amidon soluble est préparée, à la concentration de 20 %, à la température de 75 °C, jusqu'à obtenir une solution parfaitement homogène, puis est dilué au ½. Elle est ensuite pré-filtrée et filtrée sur une membrane de porosité 0,22 µm.

10 Le pH de l'amidon est ajusté, alors, à pH 3,0-3,2 et la concentration de l'amidon à 6 %. On ajoute, ensuite, à la solution d'amidon oxydé du métaperiodate de sodium, à la concentration finale de 0,36 M, à température ambiante. Après 2 heures de traitement, la solution est dialysée avec une membrane de seuil de coupure allant de 5 à 10 kDa, 15 contre de l'eau déminéralisée ultra-filtrée. La dialyse est poursuivie jusqu'à l'élimination totale des produits dialysables de la réaction d'oxydation et des réactifs ainsi que des dérivés iodés, formés pendant la réaction.

20 Ensuite, la solution d'amidon oxydé est ajustée, en concentration, à la valeur souhaitée, entre 1 à 3 %. Elle est pré-filtrée et filtrée stérilement sur membrane de porosité 0,22 µm.

Le produit est stable pendant au moins un an, à une température de +4 à +25 °C, à l'abri de l'air.

Pour la réalisation d'une mousse adhésive, la solution d'amidon oxydé peut être conditionnée en seringues.

25 La solution d'amidon oxydé, conditionnée en seringues ou en flacons, peut être également lyophilisée dans des conditions stériles et conservée à une température de +4 à +25°C, à l'abri de l'air.

Préparation du collagène chauffé :

Le collagène utilisé est de source connue de l'homme de l'art. De 30 type I bovin, il peut être acido-soluble ou solubilisé par digestion à la

pepsine. D'origine de placenta humain, il peut être préparé par extraction à la pepsine, selon le procédé décrit dans le brevet EP-A-0 214 035.

On obtient par exemple un mélange des types I et III. Celui-ci peut être ensuite éventuellement utilisé pour séparer le type I et/ou le type III.

5 On prépare une solution acide de collagène à une concentration de 4 à 16 % par addition progressive d'une poudre de collagène acide dans l'eau, à une température de 42 °C. Très rapidement, après 2 à 5 minutes d'agitation, dès que la fluidité le permet, la solution est neutralisée avec une solution molaire de soude, à un pH variant de 6,5 à 7,5.

10 Après neutralisation, la température de la solution de collagène est ajustée à +60 °C pour permettre sa stérilisation par filtration sur membrane de porosité 0,22 µm, à la suite de pré-filtrations.

15 Pour une utilisation en kit notamment comme décrit dans la demande WO 98/15299, le collagène est ensuite réparti dans des seringues et est conservé à une température comprise entre +4 et +25 °C, tout en étant stable pendant au moins un an.

Réalisation de la mousse adhésive GAO

20 On prend une seringue chauffante de 5 ml, remplie avec 2 ml de collagène chauffé à la concentration de 16 % et enveloppée par un film résistant équipé d'un thermostat permettant de maintenir la température du collagène entre +44 et +50°C. On prépare également une seringue de 5 ml contenant 2,5 ml d'air et 0,5ml d'amidon oxydé.

25 On mélange, ensuite, le contenu de ces deux seringues raccordées par un simple connecteur, en chassant alternativement totalement le contenu de l'une dans l'autre, 10 à 20 fois jusqu'à obtenir une mousse adhésive complètement homogène.

30 Selon une autre variante de réalisation de la mousse adhésive, on prend une seringue chauffante de 2,5 ml, remplie avec 2 ml de collagène chauffé à la concentration de 16 % et enveloppée par un film résistant équipé d'un thermostat permettant de maintenir la température du

collagène entre +44 et +50°C. On prépare d'un autre côté une seringue contenant 0,5 ml d'amidon oxydé. Ces deux seringues sont assemblées en un kit tel que décrit dans la demande de brevet WO 98/15299. Elles sont réunies par un ensemble connecteur / mélangeur dont la fonction est 5 d'obtenir un gel adhésif parfaitement homogène. Le contenu du kit est transféré dans une seringue vide de 5 ml, à l'aide d'un simple raccord. En parallèle, on prépare une seringue de 5 ml contenant 2,5 ml d'air.

On mélange, ensuite, le contenu de ces deux seringues comme décrit plus haut.

10 Selon une autre variante il est possible de préparer une mousse adhésive de densité moitié de la précédente. Pour cela, on assemble un kit pour 'colle' biologique, en utilisant une seringue de 2,5 ml remplie avec 2 ml de collagène chauffé à la concentration de 16 % et une seringue contenant 0,5 ml d'amidon oxydé. Le contenu de ce kit est déversé dans 15 une seringue de 10 ml. On prépare d'un autre côté une seringue de 10 ml renfermant 7,5 ml d'air.

On mélange, ensuite, le contenu des deux seringues suivant le procédé décrit ci-dessus.

20 **EXEMPLE 2 :** Mousse constituée d'une matrice adhésive préparée à partir de « colle GAO » et de collagène natif.

Préparation du collagène natif

On prépare une solution de collagène à 3 % dans de l'eau ultrafiltrée déminéralisée. On ajoute ensuite une solution de phosphate 25 disodique 0,22 M, pour obtenir une concentration finale de 20 mM. On homogénéise la suspension de collagène avec un agitateur à pale défloueuse, puis on ajuste son pH à 7,4-7,5, avec une solution concentrée d'acide chlorhydrique.

La suspension de collagène neutralisé est, ensuite, diluée avec de 30 l'eau ultrafiltrée déminéralisée pour atteindre une concentration en

collagène de 1,8 % et en phosphate de 13 mM. Elle est laissée au repos, pendant une nuit, pour avoir une fibrillation complète du collagène.

Le lendemain, la suspension de collagène est centrifugée à 10000–15000 G, pour concentrer le précipité de collagène, qui est homogénéisé, 5 par suite, avec un agitateur à pale défloculeuse. Deux grammes de précipité de collagène à 2 %, en poids, sont répartis dans des seringues de 5 ml qui sont lyophilisées, dans des conditions connues de l'homme de l'art.

Après la lyophilisation, on introduit le piston des seringues de 10 collagène, sans comprimer le collagène. On conditionne ces seringues dans un double emballage étanche qui sont stérilisées par gamma-irradiation à une dose de 25 à 35 Kgy.

D'autres variantes de ce procédé sont d'introduire des quantités et des concentrations plus ou moins importantes de collagène.

15 *Préparation des éléments de la « colle GAO »*

Les éléments de la colle GAO sont préparés comme décrit dans l'exemple 1 et comprennent une seringue de collagène chauffé à la concentration de 8 % et une seringue d'amidon oxydé à la concentration de 1,5 %.

20 *Réalisation de la mousse adhésive GAO / collagène natif*

Comme décrit dans l'exemple précédent, on réalise d'abord le mélange du collagène chauffé et de l'amidon oxydé (colle GAO), aux concentrations respectives de 8 et 1,5 %. Pour cela, on peut utiliser un kit tel que décrit dans la demande WO 98/15299 et transférer 2,5 ml de gel, 25 dans une seringue de 5 ml. On peut également utiliser deux seringues de 5 ml raccordées par un simple connecteur, l'une contenant 2 ml de ~~collagène chauffé à 8 % et l'autre 0,5 ml d'amidon oxydé à 1,5 %~~. Le mélange des deux produits est réalisé en chassant alternativement totalement le contenu de l'une des deux seringues dans l'autre, 5 à 10 fois 30 jusqu'à obtenir un gel complètement homogène.

Le collagène utilisé pour cet exemple est du collagène bovin de type I, extrait de derme de veau, éventuellement solubilisé par digestion à la pepsine et, purifié par des précipitations salines, selon les techniques déjà décrites. On peut utiliser, de la même manière, des collagènes 5 d'autres espèces animales ou d'origine humaine de type I, de type III, d'autres types ou leur mélange en toutes proportions.

La seringue de collagène lyophilisé est ensuite raccordée avec la seringue de colle GAO mélangée. Les deux produits sont homogénéisés, en commençant par faire passer la colle GAO dans la seringue contenant 10 le collagène lyophilisé, puis en transférant le contenu d'une seringue à l'autre, en poussant tour à tour leurs pistons, 10 à 20 fois, jusqu'à obtenir une mousse homogène.

A partir du moment où l'on prépare la colle GAO, la mousse doit être réalisée et utilisée avant que la matrice adhésive soit entièrement 15 polymérisée pour qu'elle puisse adhérer aux tissus.

EXEMPLE 3 : Mousse constituée d'une matrice adhésive préparée à partir de colle GAO et de collagène natif mélangé au FGF (Fibroblast 20 Growth Factor)

La colle GAO est préparée comme décrit dans l'exemple précédent, à partir de 2 ml de collagène chauffé à 8 % et 0,5 ml d'amidon oxydé à 1,5 %. Elle est transférée dans une seringue de 5 ml.

A la seringue de collagène natif, on ajoute 100 à 250 µl d'une 25 solution de FGF humain recombinant.

Puis, on mélange cette seringue de collagène natif à la colle GAO, comme décrit précédemment jusqu'à obtenir une mousse homogène GAO/collagène natif – FGF.

Selon une autre variante, on attend un temps d'adsorption du FGF 30 sur le collagène natif, de 5 à 120 minutes, avant de procéder au mélange de la préparation de collagène / FGF à la colle GAO.

Une autre variante de cet exemple consiste à lyophiliser le FGF avec le collagène natif suivant le procédé ci-dessous. On mélange au précipité de collagène une solution de FGF qui est homogénéisé, réparti dans des seringues de 5 ml, à raison de 2 g par seringue, lyophilisé et stérilisé par gamma-irradiation. Cette seringue de collagène et FGF lyophilisé est mélangé à 2,5 ml de colle GAO, comme décrit dans l'exemple 2, jusqu'à obtenir une mousse homogène.

La composition de cette mousse adhésive est particulièrement employée pour le comblement de lésions nerveuses, le FGF étant un facteur facilitant la régénération des nerfs.

Dans cet exemple, on peut remplacer le FGF par d'autres facteurs de croissance ou leurs mélanges, possédant des activités équivalentes au FGF.

EXEMPLE 4 : Mousse constituée d'une matrice adhésive préparée à partir de colle GAO et de collagène natif mélangé à l'IL-2 (interleukine de type 2)

On reprend l'exemple 3 en remplaçant le FGF ou facteurs équivalents par l'IL-2.

Cette mousse adhésive GAO/collagène natif - IL-2 est particulièrement intéressante dans le contrôle de la cancérogenèse et le développement de tumeurs. Elle peut être également préparée avec d'autres produits, seuls ou mélangés qui inhibent le développement de cancers et de tumeurs.

EXEMPLE 5 : Mousse constituée d'une matrice adhésive préparée à partir de colle GAO et de collagène natif mélangé à des facteurs de croissance cellulaire ou de régénération tissulaire

Les exemples 3 et 4 peuvent être répétés avec du collagène natif mélangé à tout facteur de croissance cellulaire ou de régénération

tissulaire pour préparer des mousses adhésives actives sur des plaies cutanées, osseuses, cartilagineuses, ...

EXEMPLE 6 : Mousse adhésive constituée d'une matrice adhésive
5 **associant l'albumine et l'amidon oxydé (colle AAO)**

On prépare comme décrit dans l'exemple 1 une solution d'amidon oxydé de 10 à 25 %.

Préparation de l'albumine

L'albumine est reprise à une concentration de 20 à 50 %,
10 neutralisée à pH 6,5-7,5 avec des solutions concentrées de soude et d'acide chlorhydrique et filtrée stérilement sur membrane de porosité 0,22 µm. 2 ml de cette solution sont ensuite conditionnés dans des seringues de 5 ml.

La seringue d'albumine et une seringue contenant 0,5 ml d'amidon oxydé de 10 à 25 % sont assemblées en un kit, suivant le procédé décrit dans l'exemple 1. Le kit est appelé AAO.

Réalisation de la mousse adhésive AAO / collagène natif.

Comme décrit dans les exemple précédents, on peut d'abord réaliser le mélange de l'albumine et de l'amidon oxydé, aux concentrations respectives de 20-50 et de 10 à 25 %, sans introduire d'air. Pour cela, on peut utiliser un kit semblable à celui utilisé pour la préparation de la colle GAO de l'exemple 2 et transférer 2,5 ml de gel, dans une seringue de 5 ml.

La seringue de colle AAO est ensuite raccordée à une seringue de 25 ml contenant 2,5 ml d'air. Les deux produits sont homogénéisés, en commençant par faire passer l'air dans la seringue contenant la colle AAO, puis en transférant le contenu d'une seringue à l'autre, en poussant tour à tour leurs pistons, 10 à 20 fois, jusqu'à obtenir une mousse homogène d'un volume de 5 ml.

30 On peut également utiliser deux seringues de 5 ml raccordées par un simple connecteur, l'une contenant 2 ml d'albumine à 20-50 % et

l'autre 0,5 ml d'amidon oxydé de 10 à 25 % et 2,5 ml d'air. Le mélange des deux produits est réalisé en chassant alternativement totalement le contenu de l'une des deux seringues dans l'autre, 5 à 10 fois jusqu'à obtenir une mousse complètement homogène.

5 A partir du moment où l'on prépare la colle AAO, la mousse doit être réalisée et utilisée avant que la matrice adhésive soit entièrement polymérisée pour qu'elle puisse adhérer aux tissus.

10 **EXEMPLE 7** : Mousse adhésive constituée d'une matrice adhésive associant l'albumine et des dérivés de polyéthylènes glycols portant des groupes électrophiles activés réactifs vis-à-vis des amines.

15 L'albumine est reprise à une concentration de 20 à 50 %, neutralisée à pH 6,5-9 comme décrit dans l'exemple 6. 2 ml de cette solution sont ensuite conditionnés dans des seringues de 5 ml.

20 Parmi les PEG électrophiles activés, on peut utiliser indifféremment, seul ou mélangés en toutes proportions, le SPA-PEG (succinimidyl propionate PEG), le SCM-PEG (Succinimidyl ester of carboxymethylated PEG) et le BTC-PEG (Benzotriazole carbonate of PEG) de poids moléculaire supérieur à 1000 Da, dérivés de PEG, produits commercialisés par Shearwater Polymers. On peut également utiliser le PEG-SS2 (Disuccinimidyl succinate PEG), synthétisé comme décrit dans la demande de brevet WO 96/03159 (Minnesota Mining and 25 Manufacturing Company). On conditionne 40 à 500 mg de PEG activé sous forme déshydratée par seringue de 5 ml.

Réalisation de la mousse adhésive.

30 On réalise le mélange de l'albumine et des PEG activés en transférant la totalité du contenu de la seringue d'albumine dans celle du PEG, puis en chassant entièrement le contenu de l'une des deux

seringues dans l'autre, 5 à 10 fois jusqu'à obtenir un gel complètement homogène de 5 ml.

A partir du moment où l'on prépare la colle associant l'albumine et les dérivés électrophiles de PEG activé, la mousse doit être réalisée et 5 utilisée avant que la colle soit entièrement polymérisée pour qu'elle puisse adhérer aux tissus.

EXEMPLE 8 : Mousse adhésive constituée d'une matrice adhésive 10 associant l'albumine et des dérivés de PEG activés réactifs vis-à-vis des sulfhydryles.

L'albumine est reprise à une concentration de 20 à 50 %, neutralisée à pH 6,5-9 comme décrit dans l'exemple précédent. 2 ml de 15 cette solution sont ensuite conditionnés dans des seringues de 5 ml.

Parmi les PEG activés réactifs vis-à-vis des sulfhydryles, on peut utiliser indifféremment, seul ou mélangés, en toutes proportions, le VS-PEG (vinyl sulfone PEG), le MAL-PEG (Maléimide PEG) et le OPSS-PEG (orthopyridyl-disulfide PEG) de poids moléculaire supérieur à 1000 Da, 20 dérivés de PEG, produits commercialisés par Shearwater Polymers. On conditionne 40 à 500 mg de PEG activé et déshydraté par seringue de 2 ml.

La mousse adhésive est ensuite réalisée comme décrit dans l'exemple 7.

25

EXEMPLE 9 : Mousse adhésive constituée d'une matrice adhésive associant le collagène chauffé et des dérivés de polyéthylènes glycols portant des groupes électrophiles activés réactifs vis-à-vis des amines.

30

On reprend l'exemple 7 en remplaçant l'albumine par le collagène chauffé, préparé comme décrit dans l'exemple 1, à la concentration de 10-

20 %, à pH 6,5-9 et en conditionnant deux fois moins de PEG activé et déshydraté par seringue de 5 ml, soit 20-250 mg de PEG.

5 EXEMPLE 10 : Mousse adhésive constituée d'une matrice adhésive associant le collagène chauffé et des dérivés PEG activés réactifs vis-à-vis des sulphydryles.

10 On reprend l'exemple 8 en remplaçant l'albumine par le collagène chauffé, préparé comme décrit dans l'exemple 1, à la concentration de 10-20 %, à pH 6,5-9 et en conditionnant deux fois moins de PEG activé et déshydraté par seringue de 5 ml, soit 20-250 mg de PEG.

15 EXEMPLE 11 : Mousse adhésive constituée d'une matrice adhésive préparée à partir d'une colle de fibrine et de gomme de Guar

Préparation de la gomme de Guar (véhicule)

20 On reprend en solution de la gomme de Guar, à la concentration finale de 0,5-5 %, dans de l'eau déminéralisée apyrogène, à une température comprise entre 75 et 100 °C, puis on ajuste le pH de cette solution à pH 7,5-9 avec un tampon phosphate concentré pour obtenir une concentration finale en phosphate de 10-20 mM. On transfère 2 ml de cette solution, par seringue de 5 ml. Cette solution est ensuite lyophilisée, dans des conditions connues de l'homme de l'art.

25 Dans une autre variante, la solution de gomme de Guar est réalisée dans de l'eau déminéralisée apyrogène, tamponnée avec 10-20 mM de borax à un pH 7,5-9 ou avec un mélange – 1:1, mol/mol – de borax et de phosphate, à une concentration finale de 10-20 mM.

30 Après la lyophilisation, on introduit le piston dans les seringues, sans comprimer la gomme de Guar. On conditionne ces seringues dans

un double emballage étanche qui sont stérilisées par gamma-irradiation à une dose de 25 à 35 KGy.

Une autre variante de ce procédé est de filtrer stérilement la solution de gomme de Guar, à chaud – c'est-à-dire dès que la viscosité de 5 la solution est suffisamment basse pour permettre la filtration stérilisante de la solution –, après l'ajustement de son pH à 7,5-9 comme indiqué ci-dessus, sur membranes de porosité 0,22 à 0,45 µm. Cette solution est ensuite répartie dans des seringues de 5 ml, à raison de 2 ml par seringue, et lyophilisée. Après la lyophilisation, on introduit le piston dans 10 les seringues, sans comprimer la gomme de Guar. On conditionne ces seringues dans un double emballage étanche. Toutes les opérations effectuées, après la filtration stérilisante, sont réalisées dans des 15 conditions stériles connues de l'homme de l'art.

Réalisation de la mousse adhésive colle de fibrine / gomme de 15 Guar

On réalise d'abord extemporanément la colle de fibrine. Toutes les colles de fibrine du commerce peuvent convenir. Il peut s'agir par exemple d'une solution de TISSUCOL® contenant le fibrinogène. 2 ml de solution de colle de fibrine préparée extemporanément sont transférés dans une 20 seringue de 5 ml et chauffés à 40°C.

La seringue de la gomme de Guar lyophilisée est ensuite raccordée avec la seringue de colle de fibrine. Les deux produits sont homogénéisés, en commençant par faire passer la colle de fibrine dans la seringue contenant la gomme de Guar lyophilisée, puis en transférant le 25 contenu d'une seringue à l'autre, en poussant tour à tour leurs pistons, 10 à 20 fois, jusqu'à obtenir une mousse homogène.

~~A partir du moment où l'on prépare la colle de fibrine, la mousse doit être réalisée et utilisée avant que le fibrinogène soit entièrement transformé en fibrine.~~

EXEMPLE 12 : Mousse adhésive constituée d'une matrice adhésive préparée à partir de colle de fibrine, de gomme de Guar et d'un antibiotique.

5 On reprend l'exemple 11 en ajoutant à 2 ml de solution de gomme de Guar avant qu'elle soit lyophilisée, 0,25-2,5 mg de vancomycine, un antibiotique efficace contre les bactéries gram-positives, notamment *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus epidermidis*, les deux agents principaux d'infection de greffes dans la chirurgie vasculaire.

10 Cette formulation est utilisée pour l'étanchéité de points de sutures d'anastomoses vasculaires.

Une variante de cet exemple est d'inclure à la place de la vancomycine d'autres antibiotiques, seuls ou leurs mélanges en toutes proportions.

REVENDICATIONS

1. Mousse adhésive fluide biocompatible, biorésorbable et non toxique, à usage chirurgical et/ou thérapeutique, notamment pour la protection de plaies et pour la liaison de tissus biologiques entre eux ou à un biomatériau implanté, caractérisée en ce qu'elle comprend une matrice adhésive biocompatible, biorésorbable et non toxique renfermant un gaz ou un mélange de gaz biocompatibles et non toxiques.
- 10 2. Mousse adhésive selon la revendication 1, caractérisée en ce que la matrice adhésive est constituée de, ou comprend, un composé protéique au moins partiellement polymérisé/réticulé, qui est non toxique, biocompatible et biodégradable et qui possède des propriétés adhésives, ledit composé protéique étant éventuellement chimiquement modifié.
- 15 3. Mousse adhésive selon l'une quelconque des revendications 1 et 2, caractérisée en ce que le composé protéique est constitué de, ou comprend, une protéine ou un mélange de protéines choisies parmi le collagène, la gélatine, l'albumine, l'élastine et le fibrinogène, de préférence parmi le collagène et l'albumine.
- 20 4. Mousse adhésive selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, caractérisée en ce que le composé protéique est constitué de, ou comprend, du collagène.
- 25 5. Mousse adhésive selon la revendication 4, caractérisée en ce que le composé protéique est constitué de, ou comprend, du collagène natif éventuellement chimiquement modifié, notamment par méthylation, succinylation.

6. Mousse adhésive selon la revendication 4, caractérisée en ce que le composé protéique est constitué de, ou comprend, du collagène chauffé.

5 7. Mousse adhésive selon l'une quelconque des revendications 1 à 6, caractérisée en ce que le composé protéique est réticulé avec un polymère réactif de poids moléculaire supérieur à 1000, de préférence choisi parmi les polyaldéhydes macromoléculaires et les polymères électrophiles.

10 8. Mousse adhésive selon la revendication 7, caractérisée en ce que le polyaldéhyde macromoléculaire est choisi parmi les polysaccharides ou mucopolysaccharides oxydés, de préférence parmi l'amidon, le dextrane, l'agarose, la cellulose, la chitine, le chitosane, l'acide alginique, les glycosaminoglycans, l'acide hyaluronique et la chondroïtine sulfate, et leurs dérivés ou leurs mélanges, plus préférentiellement parmi l'amidon et le dextrane.

15 9. Mousse adhésive selon la revendication 8, caractérisée en ce que le polyaldéhyde macromoléculaire comprend l'amidon oxydé.

20 10. Mousse adhésive selon la revendication 7, caractérisée en ce que le polymère électrophile est choisi parmi les dérivés de poly(éthylène) glycol (PEG), les poly(oxyéthylène), les poly(méthylène glycol), les poly(triméthylène glycol), les poly(vinylpyrrolidone), les dérivés du PEG étant les plus préférés.

25 11. Mousse adhésive selon l'une quelconque des revendications 1 à 9, caractérisée en ce que la matrice adhésive est constituée de, ou comprend, du collagène chauffé réticulé avec de l'amidon oxydé.

12. Mousse adhésive selon l'une quelconque des revendications 1 à 3 et 7 à 9, caractérisée en ce que la matrice adhésive est constituée de, ou comprend, de l'albumine réticulée avec de l'amidon oxydé.

5 13. Mousse adhésive selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, 7 et 12, caractérisée en ce que la matrice adhésive est constituée de, ou comprend, de l'albumine réticulée avec un polymère réactif.

10 14. Mousse adhésive selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, caractérisée en ce que la matrice adhésive est constituée de, ou comprend, une colle de fibrine.

15 15. Mousse adhésive selon l'une quelconque des revendications 1 à 14, caractérisée en ce que le gaz est choisi parmi l'air, l'azote, l'oxygène et le gaz carbonique ou le mélange d'un ou plusieurs de ces gaz, de préférence parmi l'air, le dioxyde de carbone et l'azote, l'air étant tout particulièrement préféré.

20 16. Mousse adhésive selon l'une quelconque des revendications 1 à 15, caractérisée en ce que le volume de gaz représente 25 à 90 % du volume total de la mousse, de préférence 40 à 75 %.

25 17. Mousse adhésive selon l'une quelconque des revendications 1 à 16, caractérisée en ce que la mousse contient une ou plusieurs substances biologiquement actives.

18. Mousse adhésive selon l'une quelconque des revendications 1 à 17, caractérisée en ce qu'elle est intimement liée à un film collagénique.

30 19. Procédé pour l'obtention d'une mousse adhésive fluide, biocompatible, biorésorbable et non toxique, à usage chirurgical et/ou thérapeutique, notamment pour la protection de plaies et pour la liaison de

5 tissus biologiques entre eux ou à un biomatériau implanté, caractérisé en ce qu'il comprend le fait de mélanger extemporanément, de manière homogène, un gaz ou un mélange de gaz biocompatibles et non toxiques avec un matériau de matrice adhésive biocompatible, biorésorbable et non toxique, ou un des constituants de base d'un tel matériau solubilisé en 10 milieu aqueux.

10 20. Procédé selon la revendication 19, caractérisé en ce qu'il comprend le mélange extemporané d'un composé protéique polymérisable/réticulable et potentiellement adhésif solubilisé en milieu 15 aqueux à un agent de polymérisation/réticulation.

15 21. Procédé selon l'une quelconque des revendications 19 et 20, caractérisé en ce que le composé protéique est tel que défini selon l'une quelconque des revendications 3 à 6.

20 22. Procédé selon la revendication 21, caractérisé en ce que le composé protéique consiste en, ou comprend, du collagène natif sous forme de solution aqueuse à une concentration comprise entre 1 et 5 %, de préférence 2,5 et 4 % en poids.

25 23. Procédé selon la revendication 21, caractérisé en ce que le composé protéique consiste en, ou comprend, du collagène chauffé solubilisé en milieu aqueux à une concentration comprise entre 4 et 20 %, de préférence entre 5 et 18 % en poids.

24. Procédé selon l'une quelconque des revendications 19 à 21, caractérisé en ce que le composé protéique consiste en, ou comprend, de l'albumine, solubilisée en milieu aqueux à une concentration comprise 30 entre 20 et 50 %, de préférence 40 à 50 %.

25. Procédé selon l'une quelconque des revendications 19 à 24, caractérisé en ce que l'agent de polymérisation/réticulation est un polymère réactif tel que défini selon l'une quelconque des revendications 7 à 10.

5

26. Procédé selon la revendication 25, caractérisé en ce que l'agent de polymérisation/réticulation est un polyaldéhyde macromoléculaire solubilisé en milieu aqueux à une concentration comprise entre 0,5 et 10% en poids, de préférence entre 1 et 3% en poids.

10

27. Procédé selon l'une quelconque des revendications 19 à 23 et 25 à 26, caractérisé en ce que le composé protéique consiste en, ou comprend, du collagène natif ou du collagène chauffé et l'agent de polymérisation/réticulation est l'amidon oxydé.

15

28. Procédé selon l'une quelconque des revendications 19 à 21, 23 et 26 à 28, caractérisé en ce que la proportion de polyaldéhyde macromoléculaire au collagène chauffé est de 1/10 à 1/160, de préférence de 1/15 à 1/50, la température de mélange étant comprise entre 35°C et 20 41°C.

25

29. Procédé selon l'une quelconque des revendications 19 à 22 et 25 à 27, caractérisé en ce que la proportion de polyaldéhyde macromoléculaire au collagène natif est comprise entre 1/10 à 1/50, de préférence 1/10 à 1/30 et la température de mélange est comprise entre 18°C et 37°C.

30

30. Procédé selon l'une quelconque des revendications 19 à 21,

caractérisé en ce qu'il comprend le fait de mélanger en solution aqueuse du fibrinogène avec de la thrombine.

31. Procédé selon l'une quelconque des revendications 19 à 30, caractérisé en ce que le gaz est choisi parmi l'air, l'azote, l'oxygène et le gaz carbonique ou le mélange d'un ou plusieurs de ces gaz, de préférence parmi l'air, le dioxyde de carbone et l'azote, l'air étant tout particulièrement préféré.

32. Procédé selon l'une quelconque des revendications 19 à 30, caractérisé en ce que le gaz est associé à l'un ou plusieurs des constituants pour la matrice adhésive.

10 33. Procédé selon l'une quelconque des revendications 19 à 32, caractérisé en ce que le gaz est associé à un véhicule, biocompatible et non toxique, de préférence formé d'un composé protéique selon la revendication 21.

15 34. Procédé selon l'une quelconque des revendications 19 à 33, caractérisé en ce que le gaz est fourni à l'aide de l'agent de polymérisation/réticulation et/ou du véhicule sous forme pulvérulente ou lyophilisée.

20 35. Procédé selon l'une quelconque des revendications 19 à 34, caractérisé en ce que le volume de gaz introduit représente 25 à 90 % du volume total de la mousse adhésive, de préférence 40 à 75 %.

25 36. Procédé selon l'une quelconque des revendications 19 à 35, caractérisé en ce qu'il comprend le fait d'introduire dans le matériau de matrice adhésive une ou plusieurs substances biologiquement actives.

30 37. Procédé selon la revendication 36, caractérisé en ce que la matrice biologiquement active est associée à un véhicule, biocompatible et non toxique, qui est éventuellement le véhicule pour le gaz ou le mélange de gaz.

38. Procédé selon l'une quelconque des revendications 19 à 37, caractérisé en ce que la mousse adhésive est obtenue par transfert en va-et-vient du mélange entre deux seringues.

5

39. Procédé selon l'une quelconque des revendications 19 à 38, caractérisé en ce que le gaz est introduit dans le matériau de matrice adhésive (matrice en cours de formation).

10

40. Procédé selon l'une quelconque des revendications 19 à 38, caractérisé en ce que le gaz est introduit au moment du mélange des constituants pour la formation de la matrice adhésive.

15

41. Procédé selon l'une quelconque des revendications 19 à 40, caractérisé en ce que le gaz est mélangé avec le matériau de matrice adhésive pour donner une température comprise entre 18°C et 41°C.

20

42. Kit pour la préparation d'une mousse adhésive fluide biocompatible, biorésorbable et non toxique, à usage chirurgical et/ou thérapeutique, notamment pour la protection de plaies et la liaison de tissus biologiques entre eux ou un biomatériau implanté, caractérisé en ce qu'il comprend des composants pour former une matrice adhésive biocompatible, biorésorbable et non toxique, un gaz ou un mélange de gaz biocompatibles et non toxiques, et des moyens pour mélanger extemporanément ledit gaz ou mélange de gaz avec lesdits constituants pour former la matrice adhésive, le ou les constituants de base étant solubilisés en milieu aqueux.

25

43. Kit selon la revendication 42, caractérisé en ce qu'il comprend :

30

- un composé protéique polymérisable/réticulable, potentiellement adhésif, solubilisé en milieu aqueux,
- un agent de polymérisation/réticulation,

- un gaz ou un mélange de gaz,
- des moyens pour mélanger extemporanément ledit gaz ou mélange de gaz avec le composé protéique en solution aqueuse et l'agent de polymérisation/réticulation.

5

44. Kit selon l'une quelconque des revendications 42 et 43, caractérisé en ce que le composé protéique, l'agent de polymérisation/réticulation et le gaz sont tels que définis selon l'une quelconque des revendications 21 à 31.

10

45. Kit selon l'une quelconque des revendications 42 à 48, caractérisé en ce qu'il se présente sous la forme de deux seringues équipées de moyens de mélange dont l'une des seringues contient le composé protéique en solution aqueuse et l'autre contient l'agent de polymérisation/réticulation.

15

46. Kit selon l'une quelconque des revendications 42 à 45, caractérisé en ce que le gaz est associé au composé protéique et/ou à l'agent de polymérisation/réticulation.

20

47. Kit selon l'une quelconque des revendications 42 à 46, caractérisé en ce que le gaz est associé à un véhicule biocompatible et non toxique, de préférence formé d'un composé protéique selon la revendication 21.

25

48. Kit selon l'une quelconque des revendications 42 à 47, caractérisé en ce qu'il comprend une troisième seringue contenant le gaz éventuellement associé à un véhicule.

30

49. Kit selon la revendication 48, caractérisé en ce que le véhicule contient en outre une ou plusieurs substances biologiquement actives.

50. Kit selon l'une quelconque des revendications 42 à 49, caractérisé en ce que l'agent de polymérisation/réticulation et/ou le véhicule est sous forme lyophilisée.

25. Procédé selon l'une quelconque des revendications 19 à 24, caractérisé en ce que l'agent de polymérisation/réticulation est un polymère réactif tel que défini selon l'une quelconque des revendications 7 à 10.

5

26. Procédé selon la revendication 25, caractérisé en ce que l'agent de polymérisation/réticulation est un polyaldéhyde macromoléculaire solubilisé en milieu aqueux à une concentration comprise entre 0,5 et 10% en poids, de préférence entre 1 et 3% en poids.

10

27. Procédé selon l'une quelconque des revendications 19 à 23 et 25 à 26, caractérisé en ce que le composé protéique consiste en, ou comprend, du collagène natif ou du collagène chauffé et l'agent de polymérisation/réticulation est l'amidon oxydé.

15

28. Procédé selon l'une quelconque des revendications 19 à 21, 23 et 26, 27, caractérisé en ce que la proportion de polyaldéhyde macromoléculaire au collagène chauffé est de 1/10 à 1/160, de préférence de 1/15 à 1/50, la température de mélange étant comprise entre 35°C et 20 41°C.

29. Procédé selon l'une quelconque des revendications 19 à 22 et 25 à 27, caractérisé en ce que la proportion de polyaldéhyde macromoléculaire au collagène natif est comprise entre 1/10 à 1/50, de préférence 1/10 à 1/30 et la température de mélange est comprise entre 25 18°C et 37°C.

30. Procédé selon l'une quelconque des revendications 19 à 21, caractérisé en ce qu'il comprend le fait de mélanger en solution aqueuse 30 du fibrinogène avec de la thrombine.

Documents reçus
le : 11-07-00
Non examinés par
l'I.N.P.I.

REVENDICATIONS

1. Mousse protéique adhésive fluide biocompatible, biorésorbable et non toxique, à usage chirurgical et/ou thérapeutique, notamment pour la protection de plaies et pour la liaison de tissus biologiques entre eux ou à ~~un biomatériau implanté, caractérisée en ce qu'elle comprend une matrice~~ protéique fluide adhésive biocompatible, biorésorbable et non toxique renfermant un gaz ou un mélange de gaz biocompatibles et non toxiques.
- 10 2. Mousse adhésive selon la revendication 1, caractérisée en ce que la matrice protéique adhésive est constituée de, ou comprend, un composé protéique au moins partiellement polymérisé/réticulé, qui est non toxique, biocompatible et biodégradable et qui possède des propriétés adhésives, ledit composé protéique étant éventuellement chimiquement modifié.
- 15 3. Mousse adhésive selon l'une quelconque des revendications 1 et 2, caractérisée en ce que le composé protéique est constitué de, ou comprend, une protéine ou un mélange de protéines choisies parmi le collagène, la gélatine, l'albumine, l'élastine et le fibrinogène, de préférence parmi le collagène et l'albumine.
- 20 4. Mousse adhésive selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, caractérisée en ce que le composé protéique est constitué de, ou comprend, du collagène.
- 25 5. Mousse adhésive selon la revendication 4, caractérisée en ce que le composé protéique est constitué de, ou comprend, du collagène natif éventuellement chimiquement modifié, notamment par méthylation, succinylation.

6. Mousse adhésive selon la revendication 4, caractérisée en ce que le composé protéique est constitué de, ou comprend, du collagène chauffé.

5 7. Mousse adhésive selon l'une quelconque des revendications 1 à 6, caractérisée en ce que le composé protéique est réticulé avec un polymère réactif de poids moléculaire supérieur à 1000, de préférence choisi parmi les polyaldéhydes macromoléculaires et les polymères électrophiles.

10 8. Mousse adhésive selon la revendication 7, caractérisée en ce que le polyaldéhyde macromoléculaire est choisi parmi les polysaccharides ou mucopolysaccharides oxydés, de préférence parmi l'amidon, le dextrane, l'agarose, la cellulose, la chitine, le chitosane, 15 l'acide alginique, les glycosaminoglycans, l'acide hyaluronique et la chondroïtine sulfate, et leurs dérivés ou leurs mélanges, plus préférentiellement parmi l'amidon et le dextrane.

9. Mousse adhésive selon la revendication 8, caractérisée en ce 20 que le polyaldéhyde macromoléculaire comprend l'amidon oxydé.

10. Mousse adhésive selon la revendication 7, caractérisée en ce que le polymère électrophile est choisi parmi les dérivés de poly(éthylène) glycol (PEG), les poly(oxyéthylène), les poly(méthylène glycol), les 25 poly(triméthylène glycol), les poly(vinylpyrrolidone), les dérivés du PEG étant les plus préférés.

11. Mousse adhésive selon l'une quelconque des revendications 1 à 9, caractérisée en ce que la matrice protéique adhésive est constituée 30 de, ou comprend, du collagène chauffé réticulé avec de l'amidon oxydé.

12. Mousse adhésive selon l'une quelconque des revendications 1 à 3 et 7 à 9, caractérisée en ce que la matrice adhésive est constituée de, ou comprend, de l'albumine réticulée avec de l'amidon oxydé.

5 13. Mousse adhésive selon l'une quelconque des revendications 1 à 3 , 7 et 12, caractérisée en ce que la matrice adhésive est constituée de, ou comprend, de l'albumine réticulée avec un polymère réactif.

10 14. Mousse adhésive selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, caractérisée en ce que la matrice adhésive est constituée de, ou comprend, une colle de fibrine.

15 15. Mousse adhésive selon l'une quelconque des revendications 1 à 14, caractérisée en ce que le gaz est choisi parmi l'air, l'azote, l'oxygène et le gaz carbonique ou le mélange d'un ou plusieurs de ces gaz, de préférence parmi l'air, le dioxyde de carbone et l'azote, l'air étant tout particulièrement préféré.

20 16. Mousse adhésive selon l'une quelconque des revendications 1 à 15, caractérisée en ce que le volume de gaz représente 25 à 90 % du volume total de la mousse, de préférence 40 à 75 %.

25 17. Mousse adhésive selon l'une quelconque des revendications 1 à 16, caractérisée en ce que la mousse contient une ou plusieurs substances biologiquement actives.

18. Mousse adhésive selon l'une quelconque des revendications 1 à 17, caractérisée en ce qu'elle est intimement liée à un film collagénique.

30 19. Procédé pour l'obtention d'une mousse protéique adhésive fluide, biocompatible, biorésorbable et non toxique, à usage chirurgical et/ou thérapeutique, notamment pour la protection de plaies et pour la

liaison de tissus biologiques entre eux ou à un biomatériau implanté, caractérisé en ce qu'il comprend le fait de mélanger extemporanément, de manière homogène, un composé protéique polymérisable/réticulable et potentiellement adhésif à un agent de polymérisation/réticulation pour 5 former un matériau fluide de matrice protéique adhésive biocompatible, biorésorbable et non toxique et un gaz ou un mélange de gaz biocompatibles et non toxiques avec ce matériau fluide de matrice protéique adhésive, ou avec un des constituants de base d'un tel matériau solubilisé en milieu aqueux.

10

20. Procédé selon la revendication 19, caractérisé en ce que le composé protéique est tel que défini selon l'une quelconque des revendications 3 à 6.

15

21. Procédé selon la revendication 20, caractérisé en ce que le composé protéique consiste en, ou comprend, du collagène natif sous forme de solution aqueuse à une concentration comprise entre 1 et 5 %, de préférence 2,5 et 4 % en poids.

20

22. Procédé selon la revendication 20, caractérisé en ce que le composé protéique consiste en, ou comprend, du collagène chauffé solubilisé en milieu aqueux à une concentration comprise entre 4 et 20 %, de préférence entre 5 et 18 % en poids.

25

23. Procédé selon l'une quelconque des revendications 19 et 20, caractérisé en ce que le composé protéique consiste en, ou comprend, de l'albumine, solubilisée en milieu aqueux à une concentration comprise entre 20 et 50 %, de préférence 40 à 50 %.

30

24. Procédé selon l'une quelconque des revendications 19 à 23, caractérisé en ce que l'agent de polymérisation/réticulation est un

Documents reçus
le : 11-07-00
Non examinés par
l'I.N.P.I.

polymère réactif tel que défini selon l'une quelconque des revendications 7 à 10.

25. Procédé selon la revendication 24, caractérisé en ce que l'agent de polymérisation/réticulation est un polyaldehyde macromoléculaire solubilisé en milieu aqueux à une concentration comprise entre 0,5 et 10% en poids, de préférence entre 1 et 3% en poids.

10 26. Procédé selon l'une quelconque des revendications 19 à 22 et 24 et 25, caractérisé en ce que le composé protéique consiste en, ou comprend, du collagène natif ou du collagène chauffé et l'agent de polymérisation/réticulation est l'amidon oxydé.

15 27. Procédé selon l'une quelconque des revendications 19, 20, 22, 25 et 26, caractérisé en ce que la proportion de polyaldehyde macromoléculaire au collagène chauffé est de 1/10 à 1/160, de préférence de 1/15 à 1/50, la température de mélange étant comprise entre 35°C et 41°C.

20 28. Procédé selon l'une quelconque des revendications 19 à 21 et 24 à 26, caractérisé en ce que la proportion de polyaldehyde macromoléculaire au collagène natif est comprise entre 1/10 à 1/50, de préférence 1/10 à 1/30 et la température de mélange est comprise entre 18°C et 37°C.

25 29. Procédé selon l'une quelconque des revendications 19 et 20, caractérisé en ce qu'il comprend le fait de mélanger en solution aqueuse du fibrinogène avec de la thrombine.

30 30. Procédé selon l'une quelconque des revendications 19 à 29, caractérisé en ce que le gaz est choisi parmi l'air, l'azote, l'oxygène et le gaz carbonique ou le mélange d'un ou plusieurs de ces gaz, de

Documents reçus
le : 11-02-80
Non examinés par
l'I.N.P.I.

préférence parmi l'air, le dioxyde de carbone et l'azote, l'air étant tout particulièrement préféré.

31. Procédé selon l'une quelconque des revendications 19 à 29,
5 caractérisé en ce que le gaz est associé à l'un ou plusieurs des constituants pour la matrice adhésive.

32. Procédé selon l'une quelconque des revendications 19 à 31,
caractérisé en ce que le gaz est associé à un véhicule, biocompatible et
10 non toxique, de préférence formé d'un composé protéique selon la revendication 21.

33. Procédé selon l'une quelconque des revendications 19 à 32,
caractérisé en ce que le gaz est fourni à l'aide de l'agent de
15 polymérisation/réticulation et/ou du véhicule sous forme pulvérulente ou lyophilisée.

34. Procédé selon l'une quelconque des revendications 19 à 33,
caractérisé en ce que le volume de gaz introduit représente 25 à 90 % du
20 volume total de la mousse adhésive, de préférence 40 à 75 %.

35. Procédé selon l'une quelconque des revendications 19 à 34,
caractérisé en ce qu'il comprend le fait d'introduire dans le matériau de
matrice adhésive une ou plusieurs substances biologiquement actives.

25
36. Procédé selon la revendication 35, caractérisé en ce que la matrice biologiquement active est associée à un véhicule, biocompatible et non toxique, qui est éventuellement le véhicule pour le gaz ou le
mélange de gaz.

Documents reçus
le : 11. 07. 00
Non examinés par
l'I.N.P.I.

37. Procédé selon l'une quelconque des revendications 19 à 36, caractérisé en ce que la mousse adhésive est obtenue par transfert en va-et-vient du mélange entre deux seringues.

5 38. Procédé selon l'une quelconque des revendications 19 à 37, caractérisé en ce que le gaz est introduit dans le matériau de matrice adhésive (matrice en cours de formation).

10 39. Procédé selon l'une quelconque des revendications 19 à 37, caractérisé en ce que le gaz est introduit au moment du mélange des constituants pour la formation de la matrice adhésive.

15 40. Procédé selon l'une quelconque des revendications 19 à 39, caractérisé en ce que le gaz est mélangé avec le matériau de matrice adhésive pour donner une température comprise entre 18°C et 41°C.

20 41. Kit pour la préparation d'une mousse protéique adhésive fluide biocompatible, biorésorbable et non toxique, à usage chirurgical et/ou thérapeutique, notamment pour la protection de plaies et la liaison de tissus biologiques entre eux ou un biomatériau implanté, caractérisé en ce qu'il comprend un composé protéique polymérisable/réticulable, potentiellement adhésif, solubilisé en milieu aqueux, et un agent de polymérisation/réticulation, pour former une matrice protéique adhésive fluide biocompatible, biorésorbable et non toxique, un gaz ou un mélange de gaz biocompatibles et non toxiques, et des moyens pour mélanger extemporanément les constituants pour former la matrice protéique adhésive, sous forme solubilisée en milieu aqueux avec ledit gaz ou mélange de gaz.

30 42. Kit selon la revendication 41, caractérisé en ce que le composé protéique, l'agent de polymérisation/réticulation et le gaz sont tels que définis selon l'une quelconque des revendications 20 à 30.

43. Kit selon l'une quelconque des revendications 41 et 42, caractérisé en ce qu'il se présente sous la forme de deux seringues équipées de moyens de mélange dont l'une des seringues contient le 5 composé protéique en solution aqueuse et l'autre contient l'agent de polymérisation/réticulation.

44. Kit selon l'une quelconque des revendications 41 à 43, caractérisé en ce que le gaz est associé au composé protéique et/ou à 10 l'agent de polymérisation/réticulation.

45. Kit selon l'une quelconque des revendications 41 à 44, caractérisé en ce que le gaz est associé à un véhicule biocompatible et non toxique, de préférence formé d'un composé protéique selon la 15 revendication 21.

46. Kit selon l'une quelconque des revendications 41 à 45, caractérisé en ce qu'il comprend une troisième seringue contenant le gaz éventuellement associé à un véhicule.

20 47. Kit selon la revendication 46, caractérisé en ce que le véhicule contient en outre une ou plusieurs substances biologiquement actives.

48. Kit selon l'une quelconque des revendications 41 à 47, 25 caractérisé en ce que l'agent de polymérisation/réticulation et/ou le véhicule est sous forme lyophilisée.

